



TITLE:

FANCD2 protects genome stability by recruiting RNA processing enzymes to resolve R - loops during mild replication stress( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Okamoto, Yusuke

---

CITATION:

Okamoto, Yusuke. FANCD2 protects genome stability by recruiting RNA processing enzymes to resolve R - loops during mild replication stress. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21646>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	岡 本 裕 介
論文題目	FANCD2 protects genome stability by recruiting RNA processing enzymes to resolve R - loops during mild replication stress (FANCD 2はRNAプロセッシング酵素をリクルートすることにより Rループを解除しゲノムの安定性を保つ)		
(論文内容の要旨)			
ファンconi貧血 (FA) は、DNA 損傷修復の欠損によって生じる小児先天性疾患として有名である。			
FA は DNA 損傷のうち、DNA 鎖間架橋 (Interstrand Cross Link: ICL) という損傷が修復できないために引き起こされる。ICL 損傷は代表的抗がん剤であるシスプラチンや体内のアルデヒドによって引き起こされる損傷で、遺伝子の転写や DNA 複製を妨げ、重篤な影響を及ぼす。			
DNA ポリメラーゼ阻害薬であるアフィジコリンを低容量で用いると遺伝子の特定の領域に染色体の断裂がみられ、その領域のことを Common Fragile Site (CFS) と呼ぶ。最近 CFS において複製ストレス下に転写と複製のマシナリーが衝突し、そこに R-loop が形成されていることが報告され、FA の原因遺伝子産物である FANCD2 が R-loop を解除している可能性が示唆されていたが、そのメカニズムについては不明であった。			
そこで今回、複製ストレス下における FANCD2 の R-loop 解除のメカニズムを検討した。まずアフィジリコリンによる複製ストレス下に転写と複製のマシナリーが衝突していることを proximal ligation assay (PLA) を用いて示し、その領域に FANCD2 が集積していることを確認した。次に siRNA による FANCD2 knock down により R-loop が増加することを免疫染色を用いて示した。更に以前に行った mass spectrometry 解析によって、FANCD2 の新たな会合分子として hnRNP U (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U) 、DDX47 (DEAD box protein 47) を含む様々な RNA processing factor が同定されており、FANCD2 がこれらの分子をリクルートすることにより R-loop を解除している可能性を予想した。そして FANCD2 が実際にこれらの因子と会合することを共免疫沈降法を用いて確認した。hnRNP U や DDX47 を siRNA で knock down することにより R-loop は増加したが、FANCD2 との double knock down では転写と複製のマシナリーの衝突は増加しなかった。このことから、FANCD2 とこれらの RNA processing factor が R-loop を抑制することで、協調して転写と複製マシナリーの衝突を軽減し、ゲノムの安定性を保持している可能性が示された。			
また FANCD2 が複製ストレス下に CFS を含む巨大脆弱遺伝子に集積し、その巨大遺伝子の中には自閉症や神経の分化に関連した遺伝子が含まれることが報告されている。更にがん細胞において見られる copy number variant (CNV) と CFS がしばしば一致することが知られており、神経分化や、がん遺伝子によって起こる複製ストレス下においても FANCD2 が重要な働きをしている可能性が示唆されている。			
また RNA splicing factor の変異が骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndrome: MDS) において高率に見つかることが以前より報告されていたが、			

最近これらの変異によって R-loop が蓄積し造血幹細胞の増殖が抑制されることが報告され、今回明らかになった FANCD2 の複製ストレス下における R-loop の抑制機構が、今後自閉症や骨髄不全が引き起こされるメカニズムを知る上で、重要な手がかりとなることが期待される。 (論文審査の結果の要旨)
DNA 鎖間架橋 (interstrand crosslinks; ICL) は転写や複製を阻害する極めて有害な DNA 損傷である。ICL の修復は多くの蛋白質によって協調的に行われており、その遺伝的な欠損によって小児遺伝病であるファンconi貧血 (Fanconi anemia ; FA)が発症する。FA においては現在までに 22 の原因遺伝子が同定されており、FANCD2 はその中でも最も重要な因子と考えられている。 近年、FANCD2 が ICL 修復だけではなく、複製ストレス下に脆弱性を示す Common Fragile Site (CFS) と呼ばれる染色体領域の安定性に寄与することが報告されている。本研究では FANCD2 が hnRNP U (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U) 、 DDX47 (DEAD box protein 47) を含む様々な RNA processing enzyme をリクルートすることで、複製ストレス下に転写と複製のマシナリーが衝突して形成される R-loop の解除、抑制に寄与する可能性を見出した。その結果、転写と複製のマシナリーの衝突が軽減されることでゲノムの安定性が保たれることが想定される。 また RNA splicing factor の変異が骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndrome: MDS) において高率に見出されるが、最近これらの変異によって R-loop が蓄積し造血幹細胞の増殖が抑制されることが報告された。今回明らかになった FANCD2 の複製ストレス下における R-loop の抑制機構が、FA 患者において骨髄不全や発癌が引き起こされるメカニズムを知る上で重要な手がかりとなることが期待される。
以上の研究は FA の病態や、ゲノム不安定性の解明に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 31 年 2 月 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：                      年                      月                      日 以降